

DISEGNO DI LEGGE

presentato dal Ministro della Sanità

(DEGAN)

di concerto col Ministro degli Affari Esteri

(ANDREOTTI)

col Ministro dell'Agricoltura e delle Foreste

(PANDOLFI)

e col Ministro per il Coordinamento delle Politiche Comunitarie

(FORTE)

COMUNICATO ALLA PRESIDENZA IL 4 APRILE 1985

Modifiche ed integrazioni alla legge 30 aprile 1976, n. 397, concernente norme sanitarie sugli scambi degli animali tra l'Italia e gli Stati membri della Comunità economica europea, e al decreto del Presidente della Repubblica 21 luglio 1982, n. 728, di attuazione della direttiva 72/461 in materia di scambi intracomunitari di carni fresche

ONOREVOLI SENATORI. — Il disegno di legge è diretto a recepire nella legislazione nazionale le direttive del Consiglio della Comunità economica europea:

79/109/CEE del 24 gennaio 1979,
79/111/CEE del 24 gennaio 1979,
80/219/CEE del 22 gennaio 1980,
80/1098/CEE dell'11 novembre 1980,
80/1102/CEE dell'11 novembre 1980,
80/1274/CEE del 22 dicembre 1980,

81/1016/CEE del 15 dicembre 1981,
82/61/CEE del 26 gennaio 1982,

recanti modifiche ed integrazioni della direttiva 64/432/CEE del 26 giugno 1964, relativa a problemi di polizia sanitaria in materia di scambi intracomunitari degli animali della specie bovina e suina,

82/893/CEE del 21 dicembre 1982 recante modifiche della direttiva 64/432/CEE sopra citata e della direttiva 72/461/CEE

IX LEGISLATURA — DISEGNI DI LEGGE E RELAZIONI - DOCUMENTI

relativa a problemi di polizia sanitaria in materia di scambi intracomunitari di carni fresche,

80/1099/CEE dell'11 novembre 1980 recante modifiche della direttiva 72/461/CEE sopra citata,

83/642/CEE del 12 dicembre 1983,

83/646/CEE del 13 dicembre 1983,

84/336/CEE del 18 giugno 1984.

In base all'articolo 104 del Trattato di adesione alla CEE, la Danimarca, l'Irlanda e la Gran Bretagna erano state autorizzate a mantenere in vigore fino alla fine del 1977 le rispettive norme nazionali per l'attribuzione agli allevamenti bovini delle qualifiche di « ufficialmente indenne da tubercolosi » e di « indenne da brucellosi ». Queste deroghe sono state successivamente prorogate più volte, in attesa di risolvere una serie di problemi tecnici che non consentivano di realizzare una adeguata armonizzazione in questo settore.

Le direttive 79/109/CEE, 79/111/CEE e 80/219/CEE recano, fondamentalmente, norme atte a risolvere i predetti problemi.

Dopo l'adozione, da parte del Consiglio, della direttiva n. 64/432/CEE, sono stati realizzati importanti progressi in materia di controllo della brucellosi bovina e, in particolare, per quanto riguarda la diagnosi e la profilassi immunizzante. In relazione a ciò, alcuni Stati membri hanno introdotto nei rispettivi piani nazionali di controllo della brucellosi metodi nuovi, diversi da quelli utilizzati negli scambi intracomunitari, ma sostanzialmente equivalenti.

Per conseguire la necessaria armonizzazione dei procedimenti di controllo adottati in questi due settori, la direttiva n. 79/109/CEE sancisce innanzitutto l'equivalenza tra diversi metodi di vaccinazione e di diagnosi sierologica. La stessa direttiva reca, inoltre, modifiche alla disciplina dei controlli periodici degli allevamenti indenni, nel senso che prevede la possibilità di adeguare la periodicità dei controlli stessi alla situazione zoonosanitaria esistente nell'intero territorio dello Stato membro o in parte di esso.

A tal fine è inserita nella regolamentazione comunitaria la definizione di « regione ».

La direttiva n. 79/111/CEE reca, oltre ad alcune disposizioni transitorie già scadute, una norma che prevede la possibilità di dichiarare ufficialmente indenne da brucellosi un allevamento bovino situato in uno Stato membro in cui, da almeno dieci anni, non si è constatato alcun caso di tale malattia.

Con l'applicazione di tali norme gli allevamenti bovini della Danimarca, paese totalmente indenne da brucellosi da 10 anni, hanno potuto acquisire la qualifica di « ufficialmente indenne da brucellosi bovina » prevista dalla direttiva n. 64/432/CEE.

La direttiva n. 80/219/CEE prevede innanzitutto la riduzione del numero dei controlli di *routine* per quanto riguarda la tubercolosi nelle regioni della Comunità in cui la malattia è praticamente scomparsa, contribuendo così alla riduzione dei costi ed alla facilitazione degli scambi bovini.

Viene, inoltre, ridotto il tempo richiesto per attribuire nuovamente la qualifica di « ufficialmente indenne da tubercolosi » agli allevamenti per i quali detta qualifica è stata sospesa a seguito della comparsa della malattia in un solo animale. Al fine di facilitare gli scambi di alcune categorie di bovini, sono modificate e prorogate fino al 31 dicembre 1985 alcune deroghe concernenti la brucellosi previste dall'articolo 7 della direttiva n. 64/432/CEE (recepimento direttive 81/1016 e 82/61).

Sulla base dei risultati emersi da una ampia sperimentazione cui hanno partecipato istituti specializzati dei vari Paesi membri sono modificate e aggiornate le norme per la produzione e l'impiego delle tubercoline bovine e sono inserite, nel nuovo testo dell'allegato B, norme per la produzione e l'impiego delle tubercoline aviarie.

La Danimarca, l'Irlanda e il Regno Unito hanno potuto beneficiare, sin dal momento della loro adesione, di deroghe che hanno consentito a tali Paesi di mantenere le rispettive regolamentazioni nazionali concernenti la difesa contro la peste suina, deroghe che, di fatto, sono equivalenti ad un di-

IX LEGISLATURA — DISEGNI DI LEGGE E RELAZIONI - DOCUMENTI

vieto di importare suini dagli altri Paesi membri.

La direttiva n. 80/1098/CEE persegue l'obiettivo di sostituire tali deroghe con un regime comunitario atto a consentire la realizzazione degli scambi evitando qualsiasi rischio di propagazione della peste suina. A tal fine gli Stati membri indenni sono autorizzati ad adottare misure complementari per prevenire qualsiasi contagio attraverso gli scambi, in attesa che la peste suina sia eliminata dalle regioni in cui è ancora presente.

La stessa direttiva integra la regolamentazione comunitaria che disciplina gli scambi di animali introducendo definitivamente nella stessa adeguate garanzie per la malattia vescicolare dei suini da enterovirus. Tali garanzie si identificano con quelle già applicate a seguito della decisione n. 73/53/CEE adottata dalla Commissione il 26 febbraio 1973.

Ulteriori modifiche della direttiva n. 64/432/CEE/ sono previste, in materia di leucosi bovina enzootica, dalla direttiva n. 80/1102/CEE.

Detta direttiva mira ad eliminare le difficoltà derivanti agli scambi dal fatto che mentre in alcuni Paesi membri sono in atto piani nazionali e regionali di eradicazione della leucosi bovina enzootica, in altri non sono state ancora adottate misure profilattiche, pur essendo presente la malattia.

A tal fine la direttiva n. 80/1102/CEE prevede, in via provvisoria, garanzie sanitarie particolari, applicabili negli scambi di bovini da allevamento o da produzione. Tenuto conto che il rischio di propagazione della leucosi deve essere valutato in funzione delle categorie di animali, sono previste alcune deroghe per i bovini destinati all'ingrasso e sono esclusi i bovini da macello dalla applicazione del predetto regime di garanzie. In attesa di realizzare, con altra direttiva, una più completa armonizzazione legislativa in questo settore, sono infine previste misure minime di profilassi che devono essere applicate in tutti i Paesi membri nei quali non sono stati ancora avviati programmi profilattici nazionali e regionali a carattere obbligatorio.

La direttiva n. 80/1274/CEE indica l'istituto ufficiale greco preposto al controllo delle tubercoline e degli antigeni brucellari di cui agli allegati B e C della direttiva n. 64/439/CEE e la qualifica del veterinario autorizzato a firmare i certificati sanitari previsti dalla stessa direttiva.

L'articolo 1 del disegno di legge è diretto ad aggiornare il testo dell'articolo 1 del decreto del Presidente della Repubblica 5 giugno 1982, n. 475, che ha sostituito l'articolo 1 della legge n. 397, tenendo conto delle nuove direttive che vengono recepite.

L'articolo 2 reca modifiche e integrazioni all'articolo 2 della legge n. 397; sono previste, tra l'altro, le definizioni di « Regione », di « Azienda ufficialmente indenne da peste suina », di « Stato membro o regione ufficialmente indenne da peste suina », di Stato membro, regione o azienda « indenne da peste suina ».

L'articolo 3 modifica l'articolo 3 della legge n. 397 nel senso di prevedere garanzie sanitarie per la malattia vescicolare dei suini da enterovirus e per la leucosi bovina enzootica.

L'articolo 4 integra la normativa dell'articolo 6 della legge 397 prevedendo, per la leucosi bovina enzootica, sia garanzie relative allo *status* sanitario dell'allevamento di origine, sia, limitatamente agli animali di età superiore a dodici mesi, un esame sierologico da effettuarsi, con esito negativo, nei 30 giorni precedenti la spedizione. Sono tuttavia esclusi dall'obbligo di tale esame i bovini di sesso maschile e i bovini castrati di età inferiore a 30 mesi, destinati alla produzione di carne.

L'articolo 5 prevede, a modifica dell'articolo 7 della legge n. 397, garanzie sanitarie relative alla peste suina per i suini da allevamento e da produzione.

L'articolo 6 oltre una proroga delle deroghe di cui agli articoli 2 e 3 del decreto del Presidente della Repubblica 5 giugno 1982, n. 475, prevede l'inserimento nella legge n. 397 di 3 nuovi articoli (10-ter, 10-quater e 10-quinquies). In base al disposto dell'articolo 10-ter, gli Stati membri indenni da oltre due anni dall'afta epizootica, che non pra-

ticano la vaccinazione sistematica antiaftosa e che non ammettono la presenza di animali vaccinati da almeno un anno, possono esigere garanzie sanitarie relative alla malattia vescicolare dei suini da enterovirus per i capi da allevamento e da produzione provenienti dagli altri Stati membri.

L'articolo 10-*quater* regola gli aspetti relativi al nostro ordinamento, in base ai quali, in conseguenza delle direttive recepite, determinati Paesi membri della Comunità economica europea (Danimarca, Irlanda e Regno Unito), possono — sempre che siano ufficialmente indenni da peste suina — chiedere garanzie sanitarie complementari relative a tale malattia per i suini e le relative carni fresche provenienti dagli altri Stati membri (recepisce il paragrafo 6 della direttiva 80/1098 e la direttiva 80/1099 modificando il decreto del Presidente della Repubblica n. 39 del 30 aprile 1976 e il decreto del Presidente della Repubblica n. 728 del 21 luglio 1982).

L'articolo 10-*quinquies* specifica le garanzie sanitarie che i Paesi membri in cui è in atto un piano nazionale di profilassi obbligatoria della leucosi bovina enzootica possono chiedere, nei confronti di tale malattia, per i bovini di allevamento e da produzione provenienti dagli altri Stati membri. È inoltre prevista la possibilità di estendere tale facoltà, con le procedure del Comitato veterinario permanente, anche ai Paesi in cui è stato avviato un piano di eradicazione della leucosi in applicazione delle direttive n. 77/391/CEE o nel quale sono operanti, da almeno due anni, le misure profilattiche previste, per tale malattie, dall'articolo 2 della direttiva n. 80/1102/CEE.

L'articolo 7 reca ulteriori modifiche all'articolo 11 della legge n. 397, già modificato dall'articolo 4 del decreto delegato.

In base alle nuove norme anche l'Italia potrà beneficiare, per gli animali provenienti dagli altri Stati membri, delle ampie garanzie sanitarie previste dagli articoli 10-*bis*, 10-*ter* e 10-*quinquies*, quando il nostro Paese avrà soddisfatto le condizioni previste in tali articoli per beneficiare delle garanzie stesse.

L'articolo 8 modifica il regime di deroghe previsto dall'articolo 16 della legge n. 397 e prevede la possibilità di effettuare scambi di: a) giovani bovini o bovini castrati da ingrasso e bovini da macello non sottoposti alla sieroagglutinazione per la brucellosi prima della spedizione fino al 31 dicembre 1985; b) suini da allevamento o da produzione vaccinati contro la peste suina; c) bovine da ingrasso, di età inferiore a 30 mesi, non sottoposte ad alcun esame sierologico per la leucosi bovina enzootica.

L'articolo 9 prevede, a modifica dell'allegato A, paragrafo I, della legge n. 397, norme che consentono di ridurre progressivamente i controlli per la tubercolosi bovina di mano in mano che la situazione zoonosantaria migliora nell'intero territorio nazionale o in una parte di esso, assicurando in tal modo una apprezzabile riduzione del costo della profilassi.

L'articolo 10 introduce analoghe modifiche, in materia di brucellosi, nell'allegato A, paragrafo II, della legge n. 397. È riconosciuta, nel contempo, l'equivalenza di altri metodi di diagnosi sierologica con la sieroagglutinazione.

È prevista inoltre la possibilità di dichiarare « ufficialmente indenne da brucellosi » un allevamento bovino che si trova in uno Stato membro in cui, nei 10 anni precedenti il 1° gennaio 1979, non è stato constatato nessun caso di brucellosi bovina.

Altre norme consentono di utilizzare il vaccino 45/20, in alternativa al vaccino Back 19, per il trattamento immunizzante delle giovani bovine degli allevamenti indenni da brucellosi.

Viene inoltre stabilito che i bovini maschi castrati in età inferiore ai quattro mesi sono esentati dall'obbligo delle prove sierologiche previste dai paragrafi 1-6. Ciò in quanto da un'ampia sperimentazione effettuata sotto il controllo della Commissione della Comunità economica europea è emerso che tali animali non presentano alcun pericolo per la diffusione della brucellosi.

L'articolo 11 reca il nuovo testo dell'allegato B della legge n. 397 e riguarda norme per la produzione e l'impiego delle tubercoline bovine e della tubercolina aviaria.

Le innovazioni rispetto al testo precedente sono numerose e riguardano, tra l'altro, la titolazione delle tubercoline bovine in unità tubercoliniche comunitarie; l'inserimento di norme per la produzione, la titolazione e l'impiego della tubercolina aviaria; la fissazione di nuovi *standard* CSE per la tubercolina PPD bovina, per la tubercolina sintetica bovina, per la tubercolina PPD aviaria; la elevazione dei limiti di validità delle tubercoline, le prove di sterilità, di innocuità e di non sensibilizzazione, da effettuarsi secondo le norme della Farmacopea europea; le modalità di esecuzione del controllo di attività su carni e su bovini; l'etichettatura dei contenitori e degli imballaggi delle tubercoline; il controllo delle tubercoline da parte di laboratori comunitari designati dal Consiglio entro il 31 dicembre 1983; la intradermotubercolinizzazione comparativa da effettuarsi mediante inoculazione simultanea delle due tubercoline bovine e aviaria; la valutazione della intradermotubercolinizzazione unica con tubercolina bovina.

Con l'articolo 12 vengono aggiunte all'allegato C della legge n. 397 norme tecniche concernenti l'esecuzione e la valutazione della prova dell'antigene di Brucella tamponato,

della prova dell'anello di latte effettuato su plasma sanguigno e della agglutinazione del plasma sanguigno.

L'articolo 13 prevede l'inserimento nell'allegato E della legge n. 397, concernente l'elenco delle malattie soggette a denuncia obbligatoria, della leucosi bovina enzootica e della malattia vescicolare dei suini da enterovirus.

Gli articoli 14 e 15 recano i necessari aggiornamenti dei modelli I e III di certificati sanitari previsti dall'allegato F della legge n. 397.

Con l'articolo 16 viene inserito nella legge n. 397 il nuovo allegato G, recante norme per l'esecuzione e la valutazione della prova di immunodiffusione per la leucosi bovina enzootica.

L'articolo 18 prevede uno strumento normativo che si ritiene essenziale per evitare in futuro difficoltà e ritardi nel recepimento delle direttive comunitarie concernenti gli scambi di animali.

È infatti conferito al Ministro della sanità il potere di modificare, con proprio decreto, le norme di cui agli allegati della legge n. 397 per adeguarle a quelle che saranno stabilite, in questo settore, da future direttive o decisioni comunitarie.

DISEGNO DI LEGGE**Art. 1.**

L'articolo 1 della legge 30 aprile 1976, n. 397, come modificato dall'articolo 1 del decreto del Presidente della Repubblica 5 giugno 1982, n. 475, è sostituito dal seguente:

« Gli scambi di animali da allevamento, da produzione o da macello, appartenenti alle specie bovina e suina, tra l'Italia e gli altri Stati membri della Comunità economica europea sono regolati dalle norme degli articoli seguenti, in adempimento delle disposizioni contenute:

1) nella direttiva n. 64/432/CEE adottata dal Consiglio della Comunità economica europea il 26 giugno 1964, modificata con le direttive;

66/600/CEE del 25 ottobre 1966;

70/360/CEE del 13 luglio 1970;

71/285/CEE del 19 luglio 1971 e successiva rettifica pubblicata nella *Gazzetta Ufficiale* della Comunità economica europea n. 179 del 9 agosto 1971;

77/98/CEE del 21 dicembre 1976;

79/109/CEE del 24 gennaio 1979;

79/111/CEE del 24 gennaio 1979, modificata dal Trattato di adesione della Grecia alla Comunità economica europea, ratificato con legge 12 febbraio 1980, n. 52;

80/219/CEE del 22 gennaio 1980;

80/1098/CEE dell'11 novembre 1980;

80/1102/CEE dell'11 novembre 1980;

80/1274/CEE del 22 dicembre 1980;

81/1016/CEE del 15 dicembre 1981;

82/61/CEE del 26 gennaio 1982;

82/893/CEE del 21 dicembre 1982;

83/642/CEE del 12 dicembre 1983;

83/646/CEE del 13 dicembre 1983;

84/336/CEE del 18 giugno 1984;

2) nella direttiva VI/COM (65) 186 adottata dalla Commissione della Comunità economica europea il 13 maggio 1965;

3) nella direttiva del Consiglio 80/1099/CEE dell'11 novembre 1980 ».

Art. 2.

L'articolo 2 della legge 30 aprile 1976, n. 397, è modificato come segue:

alla fine della lettera e) sono aggiunte le parole « oppure 1-bis »;

nella lettera i), numero 2, dopo le parole « di peste suina », sono inserite le parole « , di malattia vescicolare dei suini da enterovirus »;

dopo la lettera m) sono aggiunte le lettere seguenti:

n) Regione:

parte del territorio di uno Stato membro, la cui superficie è di almeno 2.000 chilometri quadrati, sottoposto ad un controllo da parte delle autorità competenti e comprendente almeno una delle seguenti circoscrizioni amministrative:

per il Belgio: Province/Provincie, »

per la Germania: Reierungsbezirk,

per la Danimarca: Amt o isola,

per la Francia: Département,

per l'Italia: Provincia,

per il Lussemburgo: —,

per i Paesi Bassi: Provincie,

per il Regno Unito:

— per l'Inghilterra, il Galles e l'Irlanda del Nord: County,

— per la Scozia: District of Island Area,

per l'Irlanda: County,

per la Grecia: Nomos;

o) Azienda ufficialmente indenne da peste suina, un'azienda in cui:

non sono stati accertati casi di peste suina nel corso degli ultimi dodici mesi;

non sono presenti suini vaccinati contro la peste suina;

la vaccinazione contro la peste suina non è stata autorizzata da almeno dodici mesi.

L'azienda deve inoltre trovarsi al centro di una zona con un raggio di 2 chilometri, in cui la peste suina non sia stata accertata almeno negli ultimi dodici mesi;

p) Stato membro o regione ufficialmente indenne da peste suina, uno Stato membro o una regione in cui:

non si sono accertati casi di peste suina nel corso degli ultimi dodici mesi;

la vaccinazione contro la peste suina non è stata autorizzata da almeno dodici mesi;

e nelle cui aziende non sono presenti suini vaccinati contro la peste suina.

Art. 3.

L'articolo 3 della legge 30 aprile 1976, n. 397, è modificato come segue:

nella lettera c), numero 2, dopo le parole « da brucellosi bovina e suina » sono inserite le parole « , da malattia vescicolare dei suini da enterovirus »;

dopo la lettera i), è inserita la seguente:

« j) purchè si tratti di bovini da allevamento riproduttori di razza pura, quali sono definiti all'articolo 1 della direttiva 77/504/CEE, esclusivamente riservati alla riproduzione e di grande valore, provenire da un allevamento:

i) in cui non è stato portato a conoscenza del veterinario ufficiale alcun fatto che consenta di desumere l'esistenza di casi di leucosi bovina enzootica nel corso degli ultimi tre anni;

ii) il cui proprietario abbia dichiarato di non essere stato a conoscenza di tali fatti e abbia inoltre dichiarato per iscritto che l'animale o gli animali destinati agli scambi intracomunitari sono nati o sono stati allevati in tale allevamento o hanno fatto parte integrante di detto allevamento nei precedenti dodici mesi;

iii) in cui tutti gli animali di età superiore a ventiquattro mesi alla data dell'esame, nel corso degli ultimi dodici mesi abbiamo reagito negativamente ad un esame sierologico effettuato conformemente all'allegato G.

Tuttavia le garanzie di cui al precedente punto *iii*) non potranno essere richieste dal Paese destinatario qualora sia riconosciuto, secondo il disposto dell'articolo 1, paragrafo 4, della direttiva 80/1102/CEE dell'11 novembre 1980, che gli allevamenti nazionali offrono sufficienti garanzie per quanto riguarda la leucosi bovina enzootica »;

la lettera *j*) diventa lettera *l*).

Art. 4.

All'articolo 6 della legge 30 aprile 1976, n. 397, dopo la lettera *d*) è aggiunta la seguente:

« *e*) provenire da un allevamento in cui nulla ha consentito di desumere l'esistenza di casi di leucosi bovina enzootica nel corso degli ultimi tre anni e, se di età superiore a dodici mesi, essere stati sottoposti con esito negativo nei trenta giorni precedenti il carico ad un esame sierologico praticato conformemente all'allegato G.

Tuttavia, questo esame non sarà necessario per i bovini di sesso maschile e per i bovini castrati destinati alla produzione di carne, di età inferiore a trenta mesi, purchè all'atto del carico questi animali rechino un contrassegno particolare di identificazione conforme alle indicazioni che saranno fornite dallo Stato membro destinatario ».

Art. 5.

Il primo comma dell'articolo 7 della legge 30 aprile 1976, n. 397, è sostituito dal seguente:

« I suini da allevamento o da produzione, in aggiunta alle condizioni previste dal precedente articolo 3, devono provenire da un allevamento suino indenne da brucellosi o da una azienda ufficialmente indenne da peste suina o da una azienda indenne da peste suina purchè, in quest'ultimo caso, siano accompagnati da un certificato attestante che gli animali non sono stati vaccinati ».

Art. 6.

La data del 31 dicembre 1982, di cui agli articoli 2 e 3 del decreto del Presidente della Repubblica 5 giugno 1982, n. 475, è sostituita da quella del 31 dicembre 1984.

La constatazione dell'afta epizootica in una parte limitata del territorio dei Paesi membri della Comunità europea che si trovano nelle condizioni di cui all'articolo 10-*bis* della legge 30 aprile 1976, n. 397, non pregiudica la possibilità di esportare conformemente alle norme di cui alle lettere *a*), *b*) e *c*) del predetto articolo, purchè la malattia sia stata eliminata.

Dopo l'articolo 10-*bis* della legge 30 aprile 1976, n. 397, sono inseriti i seguenti articoli:

« Art. 10-*ter*. — Gli animali da allevamento e da produzione della specie suina, spediti dall'Italia a quegli Stati membri che si trovano nelle condizioni di cui al precedente articolo, e nel caso che detti Stati membri lo richiedano, devono essere stati sottoposti con risultato negativo alla ricerca degli anticorpi della malattia vescicolare dei suini, effettuata nei trenta giorni che precedono la spedizione.

Art. 10-*quater*. — Gli animali della specie suina possono essere spediti dall'Italia verso gli Stati membri ufficialmente indenni da peste suina a condizione che:

a) il territorio nazionale sia ufficialmente indenne da peste suina;

oppure

b) nel caso in cui sia consentita l'importazione di suini da ingrasso di meno di 25 chilogrammi o di suini da macello vaccinati contro la peste suina:

non sia stato registrato nel territorio nazionale alcun caso di peste suina da almeno dodici mesi;

non sia stata autorizzata la vaccinazione contro la peste suina nel territorio nazionale da almeno dodici mesi;

i suini esportati siano nati ed allevati in aziende ufficialmente indenni da peste suina ed abbiano presentato, se trattasi di animali da allevamento e da produzione, un risultato negativo alla ricerca degli anticorpi prodotti dalla peste suina;

oppure

c) i suini siano originari e provenienti da una parte del territorio nazionale costituita da una o più regioni contigue, riconosciuta ufficialmente indenne da peste suina dalla Comunità economica europea.

Le carni fresche suine spedite dall'Italia verso Stati membri ufficialmente indenni da peste suina classica potranno essere spedite alle seguenti condizioni:

a) essere ottenute da suini che soddisfano i requisiti di cui al primo comma del presente articolo;

b) essere ottenute da suini non vaccinati contro la peste suina classica, allevati in aziende ufficialmente indenni da detta malattia e situate in una parte del territorio nazionale costituita da una o più regioni contigue riconosciute dalla Commissione della Comunità economica europea indenni da peste suina classica, e macellati in questa parte del territorio, in un macello in cui non sono stati macellati suini vaccinati o sono stati macellati in momenti o luoghi diversi, fermo restando che in questo caso le carni sono state depositate in luoghi separati.

Qualora si tratti di carni suine ottenute dagli animali di cui alla lettera b) del precedente comma, i suini devono essere macellati e le carni depositate in condizioni analoghe a quelle previste dal precedente comma.

Il presente articolo si applica fino al 31 dicembre 1985.

Art. 10-*quinquies*. — Gli animali da allevamento o da produzione della specie bovina spediti dall'Italia verso Stati membri che attuano un programma nazionale obbligatorio di profilassi della leucosi bovina

enzootica e destinati ad essere integrati in allevamenti bovini non sospetti di leucosi devono — qualora detti Stati lo richiedano — essere scortati da un certificato compilato da un veterinario ufficiale competente il giorno del carico e redatto almeno nella o nelle lingue del Paese destinatario, da cui risulti che:

a) il predetto veterinario non ha accertato elementi da cui si possa desumere l'esistenza di casi di leucosi bovina enzootica nell'allevamento di provenienza negli ultimi tre anni e, inoltre, il proprietario dell'allevamento ha dichiarato di non essere a conoscenza di tali elementi, e ha dichiarato per iscritto che l'animale o gli animali destinati agli scambi intracomunitari sono nati e cresciuti nell'allevamento stesso e ne hanno fatto parte integrante negli ultimi dodici mesi;

b) negli ultimi dodici mesi, tutti i bovini di oltre ventiquattro mesi di età alla data dell'esame, appartenenti all'allevamento di provenienza, hanno reagito negativamente ad un esame sierologico eseguito conformemente all'allegato G.

L'esportazione di bovini dall'Italia verso Stati membri che non attuano il programma nazionale obbligatorio, di cui al primo comma, qualora detti Stati vengano autorizzati con decisione della Commissione della Comunità economica europea adottata in conformità dell'articolo 12 della direttiva 64/432/CEE del 26 giugno 1964, deve avvenire nel rispetto delle condizioni fissate dalla Commissione nonchè delle garanzie previste al primo comma.

Il Ministero della sanità indica i Paesi per i quali si applicano le disposizioni degli articoli 10-ter e 10-quater e del presente articolo ».

Art. 7.

Le condizioni particolari di cui all'articolo 10-bis della legge 30 aprile 1976, n. 397, aggiunto dall'articolo 2 del decreto del Presidente della Repubblica 5 giugno 1982, n. 475, ed agli articoli 10-ter, 10-quater e

10-*quinquies* della medesima legge, inseriti dall'articolo 6 della presente legge, possano essere richieste per l'importazione di animali delle specie bovina e suina provenienti dagli altri Stati membri qualora le condizioni sanitarie degli allevamenti italiani corrispondano ai requisiti previsti dagli articoli sopra indicati per le specie e per le malattie considerate.

Art. 8.

L'articolo 16 della legge 30 aprile 1976, n. 397, quale modificato dal decreto del Presidente della Repubblica 5 giugno 1982, n. 475, è sostituito dal seguente:

« Con ordinanza del Ministro della sanità potranno essere concesse ad uno o più Stati membri, purchè concedano all'Italia il medesimo trattamento, autorizzazioni generali o limitate a casi determinati in base alle quali potranno spedire nel territorio nazionale:

1) bovini da allevamento, da produzione o da macello che non abbiano subito la vaccinazione antiaftosa di cui ai precedenti articoli 5 e 6, a condizione che non siano stati ufficialmente accertati casi di afta epizootica nel Paese speditore e nei Paesi di transito interessati da almeno sei mesi, a decorrere dalla data del carico;

2) bovini da allevamento o da produzione che siano stati vaccinati contro l'afta almeno due volte e abbiano subito l'ultima vaccinazione da non oltre dodici mesi e a condizione che provengano da uno Stato membro nel quale:

a) gli animali della specie bovina siano sottoposti annualmente alla vaccinazione antiaftosa;

b) si proceda alla macellazione sistematica dei bovini colpiti da afta epizootica;

c) non sia stato constatato ufficialmente alcun caso di afta epizootica da almeno sei mesi dalla data del carico;

3) bovini da allevamento o da produzione che provengano da un allevamento bovino indenne da brucellosi;

4) bovini destinati alla produzione della carne, di età inferiore a trenta mesi, non provenienti da un allevamento bovino ufficialmente indenne nè da un allevamento bovino indenne da brucellosi. Tuttavia, tali animali, se di età superiore a trenta giorni, devono aver presentato un tasso brucellare inferiore a trenta unità internazionali agglutinanti per millilitro alla siero-agglutinazione praticata non oltre trenta giorni prima del carico;

5) bovini da macello che abbiano presentato alla siero-agglutinazione un tasso brucellare di trenta o più unità internazionali agglutinanti per millilitro;

6) bovini che non siano stati sottoposti alla prescritta siero-agglutinazione purchè soddisfino alle seguenti condizioni:

i) se si tratta di bovini destinati alla produzione di carne:

essere di età inferiore a quarantadue giorni o essere stati castrati in età inferiore a quattro mesi;

essere inoltrati sotto controllo ufficiale, passando se necessario attraverso un centro di svezzamento, verso una azienda di ingrasso autorizzata, da cui possano uscire soltanto per essere macellati;

ii) se si tratta di bovini da macello, essere inoltrati sotto controllo ufficiale direttamente al macello.

Tali disposizioni si applicano fino al 31 dicembre 1985;

7) suini da allevamento e da produzione vaccinati contro la peste suina. Tale norma si applica fino al 31 dicembre 1985;

8) bovini di sesso femminile destinati alla produzione di carne, di età inferiore a trenta mesi, che non siano stati sottoposti ad alcun esame sierologico per la leucosi bovina enzootica.

Con l'ordinanza di cui al primo comma il Ministro della sanità disporrà le misure

necessarie al fine di evitare la contaminazione degli allevamenti nazionali, ivi comprese le indicazioni relative al contrassegno di cui i suddetti animali devono essere muniti.

Qualora sia stata concessa una autorizzazione generale, il Ministero della sanità provvederà ad informare immediatamente la Commissione della Comunità economica europea e le competenti autorità centrali degli altri Stati membri.

La concessione delle autorizzazioni previste dal presente articolo è subordinata alla concessione di corrispondenti autorizzazioni da parte dei Paesi di transito interessati.

I Paesi speditori devono prendere tutte le disposizioni necessarie per garantire che nei certificati sanitari, i cui modelli figurano nell'allegato *F* (modelli I e II), sia indicato che è stato fatto uso di una delle possibilità previste dal presente articolo ».

Art. 9.

Nell'allegato *A* della legge 30 aprile 1976, n. 397, il paragrafo I è sostituito dal seguente:

« I. — *Allevamenti bovini indenni da tubercolosi*

È considerato ufficialmente indenne da tubercolosi un allevamento bovino nel quale:

a) tutti i bovini sono esenti da manifestazioni cliniche di tubercolosi;

b) tutti i bovini di età superiore a sei settimane hanno avuto una reazione negativa da almeno due intradermotubercolizzazioni ufficiali praticate secondo le disposizioni dell'allegato *B* che hanno luogo la prima sei mesi dopo la fine delle operazioni di risanamento dell'allevamento, la seconda sei mesi dopo la prima e le successive ad un anno di intervallo. Quando nell'intero territorio nazionale o in una « regione », tutti i bovini siano soggetti alle misure ufficiali di lotta contro la tubercolosi e la percentuale de-

gli allevamenti bovini infetti di tubercolosi non sia superiore ad 1 in occasione di due controlli succedentisi ad intervallo di un anno, tale intervallo può essere portato a due anni. Quando la percentuale degli allevamenti bovini infettati non sia superiore a 0,2 in occasione di due controlli succedentisi ad intervallo di due anni, l'intervallo tra le tubercolinizzazioni può essere portato a tre anni.

Qualora la percentuale degli allevamenti bovini infetti non sia superiore allo 0,1 in occasione di due controlli successivi ad intervallo di tre anni, l'intervallo tra le tubercolinizzazioni successive può essere portato a quattro anni e/o l'età alla quale gli animali dovranno essere sottoposti a tali controlli può essere portata a 24 mesi.

Qualora, in un allevamento bovino ufficialmente indenne da tubercolosi, la reazione di un animale ad una tubercolinizzazione di *routine* sia considerata positiva o qualora, nello stesso allevamento, sia diagnosticato un caso clinico di tubercolosi nel corso dell'ispezione *post mortem* di *routine* su un animale proveniente da un allevamento ufficialmente indenne da tubercolosi, la qualifica « ufficialmente indenne » deve essere sospesa fintanto che tutti i rimanenti animali, di età superiore alle sei settimane, non avranno reagito negativamente ad almeno due intradermotubercolinizzazioni ufficiali conformemente all'allegato B, la prima delle quali effettuata almeno due mesi dopo l'eliminazione dell'animale dall'allevamento in questione e la seconda ad almeno quarantadue giorni di distanza;

c) non è stato introdotto alcun bovino senza attestato di un veterinario ufficiale in cui si certifichi che detto animale proviene da un allevamento bovino ufficialmente indenne da tubercolosi e, se è di età superiore a sei settimane, ha avuto una reazione negativa all'intradermotubercolinizzazione valutata secondo i criteri dell'allegato B.

Tuttavia, l'intradermotubercolinizzazione non è richiesta quando la percentuale di aziende che comprendono bovini infettati

di tubercolosi è inferiore allo 0,2 e se risulta da un attestato del veterinario ufficiale che l'animale:

- 1) è debitamente identificato;
- 2) proviene da un allevamento ufficialmente indenne da tubercolosi;
- 3) in occasione del trasporto non è entrato in contatto con bovini non provenienti da allevamenti bovini ufficialmente indenni da tubercolosi.

L'attestato previsto al precedente comma può non essere richiesto se, da almeno quattro anni, almeno il 99,80 per cento degli allevamenti bovini è ufficialmente riconosciuto indenne da tubercolosi o gli allevamenti non ufficialmente indenni si trovano sotto controllo ufficiale ed è vietato il trasferimento di bovini da tali allevamenti salvo che gli stessi siano portati direttamente al macello sotto controllo ufficiale ».

Art. 10.

Nell'allegato A della legge 30 aprile 1976, n. 397, la lettera A) del paragrafo II è sostituita dalla seguente:

« A) *Allevamenti bovini.*

1. È da considerare ufficialmente indenne da brucellosi un allevamento bovino in cui:

a) non vi sono animali della specie bovina vaccinati contro la brucellosi, salvo che non si tratti di femmine che siano state vaccinate da almeno tre anni;

b) tutti i bovini sono immuni da manifestazioni cliniche di brucellosi da almeno sei mesi;

c) tutti i bovini di età superiore a dodici mesi:

i) hanno presentato, in occasione di due sieroaagglutinazioni praticate ufficialmente ad intervalli di tre mesi almeno e di dodici mesi al massimo e secondo le disposizioni dell'allegato C, un tasso brucellare inferiore

a 30 u.i. agglutinati per millilitro, rimanendo inteso che:

la prima sieroagglutinazione può essere sostituita da tre prove dell'anello (ring-test) effettuate ad intervalli di tre mesi purchè tuttavia la seconda sieroagglutinazione sia effettuata almeno sei settimane dopo la terza prova dell'anello;

la prima sieroagglutinazione di cui al capoverso precedente può essere sostituita da una prova all'antigene di brucella tamponato effettuata conformemente alle disposizioni dell'allegato C, lettera A, numero 1;

ii) vengono controllati annualmente per stabilire l'assenza di brucellosi mediante tre prove dell'anello effettuate ad intervalli di almeno tre mesi o due prove dell'anello effettuate a intervalli di almeno tre mesi ed una prova sierologica (prova di sieroagglutinazione o prova all'antigene di brucella tamponato o prova di plasmagglutinazione o prova dell'anello di latte su plasma sanguigno) effettuata non meno di sei settimane dopo la seconda prova dell'anello. Se le prove dell'anello non vengono effettuate, due prove sierologiche (prova di sieroagglutinazione, prova all'antigene di brucella tamponato, prova di plasmagglutinazione, prova dell'anello di latte su plasma sanguigno) devono essere effettuate ogni anno ad un intervallo non inferiore a tre mesi e non superiore a sei mesi.

Tutti gli allevamenti bovini sono sottoposti a operazioni ufficiali di lotta contro la brucellosi e la percentuale degli allevamenti bovini infetti non supera l'1 per cento, è sufficiente effettuare ogni anno due prove dell'anello ad intervalli di almeno tre mesi, oppure una prova sierologica (prova di sieroagglutinazione o prova dell'antigene di Brucella tamponato o prova di plasmagglutinazione o prova dell'anello di latte su plasma sanguigno).

Si può rinunciare alle prescrizioni relative al controllo annuale dell'assenza di brucellosi previsto nel punto *ii)* quando il 99,8 per cento almeno del patrimonio bovino è riconosciuto ufficialmente indenne da brucellosi da almeno quattro anni; in tal caso

l'intervallo tra i controlli può essere portato a due anni e i controlli devono essere effettuati mediante una delle prove sierologiche menzionate nel punto *ii*);

d) non è stato introdotto alcun bovino senza un attestato di un veterinario ufficiale che certifichi che detto animale proviene da un allevamento bovino ufficialmente indenne da brucellosi e, se è di età superiore a dodici mesi, che ha presentato un tasso brucellare inferiore a 30 u.i. agglutinanti per millilitro alla sieroaagglutinazione praticata secondo le disposizioni dell'allegato C nei trenta giorni che precedono l'introduzione nell'allevamento.

Tuttavia, la sieroaagglutinazione può non essere richiesta quando nell'intero territorio nazionale o in parte di esso composto da più regioni contigue la percentuale di allevamenti bovini infettati di brucellosi non è, da almeno due anni, superiore a 0,2 e se risulta dall'attestato del veterinario ufficiale che l'animale:

- 1) è debitamente identificato;
- 2) proviene da un allevamento bovino ufficialmente indenne da brucellosi;
- 3) in occasione del suo trasporto non è entrato in contatto con bovini non provenienti da allevamenti bovini ufficialmente indenni.

L'attestato previsto al precedente comma può non essere richiesto se da quattro anni almeno il 99,80 per cento degli allevamenti bovini è riconosciuto ufficialmente indenne da brucellosi e gli allevamenti che non sono ufficialmente indenni si trovano sotto controllo ufficiale, ed è vietato il trasferimento dei bovini da tali allevamenti, salvo che gli stessi siano portati direttamente al macello sotto controllo ufficiale.

In deroga alla lettera *c*), punto *ii*), può essere deciso, secondo la procedura di cui all'articolo 12 della direttiva 64/432/CEE che, se in tutto il territorio nazionale o in una parte di esso composta da più regioni contigue il 99,8 per cento degli allevamenti bovini è stato dichiarato ufficialmente indenne da brucellosi, ai sensi dell'articolo 2, lettera *e*), per almeno dieci anni o non si

è constatato alcun caso di aborto dovuto ad infezione da brucella da almeno tre anni, le prove di controllo per il mantenimento di tale *status* possono essere effettuate secondo condizioni ed in regioni da precisare secondo la stessa procedura.

1-bis. È parimenti considerato ufficialmente indenne da brucellosi un allevamento bovino:

che si trova in uno Stato membro in cui alla data del 1° gennaio 1979 non è stato ufficialmente constatato alcun caso di brucellosi bovina da almeno dieci anni;

che ha soddisfatto in questo periodo le disposizioni del paragrafo 1), tranne, se tutti gli allevamenti bovini dello Stato membro in questione sono stati sottoposti periodicamente a esami di controllo ufficiali durante lo stesso periodo, quelle di cui alla lettera c), punto ii).

2. Un allevamento bovino è considerato indenne da brucellosi quando:

a) non comprende maschi vaccinati contro la brucellosi;

b) tutte le femmine della specie bovina, o una parte di esse, sono state vaccinate:

entro i primi sei mesi di età, con vaccino Buck 19 o con altri vaccini autorizzati secondo la procedura dell'articolo 12 della direttiva 64/432/CEE;

entro i primi 15 mesi di età, con vaccino ucciso con adiuvante 45/20, controllato e riconosciuto ufficialmente;

c) tutti i bovini soddisfano le condizioni indicate nel numero 1, lettere b) e c), rimanendo inteso che i bovini di età inferiore a trenta mesi, vaccinati con vaccino vivo Buck 19, possono presentare un tasso brucellare pari o superiore a 30 unità internazionali agglutinanti per millilitro, ma inferiore a 80 unità internazionali agglutinanti per millilitro, semprechè presentino, alla reazione di fissazione del complemento:

un tasso inferiore a 30 unità CEE, se si tratta di femmine vaccinate da meno di 12 mesi;

un tasso inferiore a 20 unità CEE in tutti gli altri casi.

Le sieroagglutinazioni, di cui al numero 1, lettera c), punto i), primo capoverso, possono essere sostituite da prove all'antigene di brucella tamponato, effettuate conformemente alle disposizioni dell'allegato C, lettera D);

d) non è stato introdotto nessun bovino senza un attestato del veterinario ufficiale con cui si certifichi che l'animale risponde alle condizioni previste al numero 1, lettera d), oppure che esso proviene da un allevamento riconosciuto indenne da brucellosi e in questo caso, se è di età superiore a dodici mesi, ha presentato nei trenta giorni precedenti l'introduzione nell'allevamento secondo le disposizioni dell'allegato C, un tasso brucellare inferiore a 30 u.i. agglutinanti per millilitro e una reazione negativa di fissazione del complemento.

Tuttavia, un bovino vaccinato col vaccino vivo Buck 19 di età inferiore a trenta mesi può presentare un tasso brucellare uguale o superiore a 30 u.i. agglutinanti per millilitro ma inferiore a 80 u.i. agglutinanti per millilitro, purchè alla reazione di fissazione del complemento presenti:

un tasso inferiore a 30 unità CEE, se si tratta di una femmina vaccinata da meno di dodici mesi;

un tasso inferiore a 20 unità CEE dopo il dodicesimo mese successivo alla vaccinazione.

3. Un allevamento bovino indenne da brucellosi può essere qualificato allevamento bovino ufficialmente indenne da brucellosi dopo un termine minimo di tre anni se:

a) non vi si trova alcun animale vaccinato contro la brucellosi da meno di tre anni;

b) durante questi tre anni sono state rispettate senza interruzione le condizioni di cui al numero 2, lettera c);

c) al termine del terzo anno gli animali di più di dodici mesi hanno presentato un tasso brucellare inferiore a 30 u.i. agglu-

tinanti per millilitro alla sieroagglutinazione ed una reazione negativa alla fissazione del complemento. Tali prove sono praticate secondo le disposizioni dell'allegato C.

4. In un allevamento bovino riconosciuto ufficialmente indenne da brucellosi possono essere introdotti anche bovini provenienti da un allevamento indenne da brucellosi quando:

al momento della loro introduzione hanno un'età di almeno diciotto mesi;

nel caso in cui siano stati vaccinati contro la brucellosi, la vaccinazione è stata effettuata da oltre un anno;

entro i trenta giorni che precedono la loro introduzione, conformemente alle disposizioni dell'allegato C, hanno presentato un tasso brucellare inferiore a 30 u.i. agglutinanti per millilitro e una reazione negativa alla fissazione del complemento.

Se un bovino è introdotto, conformemente al primo comma, in un allevamento riconosciuto ufficialmente indenne da brucellosi, quest'ultimo, ai fini degli scambi intracomunitari, è considerato indenne da brucellosi per un periodo di due anni a decorrere dalla data di introduzione dell'animale.

5. Se in un allevamento ufficialmente indenne da brucellosi si constata un sospetto di brucellosi presso uno o più bovini, la qualifica di questo allevamento può essere provvisoriamente sospesa piuttosto che ritirata, purchè l'animale o gli animali siano immediatamente eliminati o isolati.

La sospensione provvisoria può essere tolta qualora due sieroagglutinazioni praticate secondo le disposizioni dell'allegato C con intervallo da sei ad otto settimane su tutti gli animali di età superiore a dodici mesi, diano un tasso inferiore a 30 u.i. agglutinanti per millilitro.

Gli animali isolati possono essere reintrodotti nell'allevamento se, nell'intervallo dalle sei alle otto settimane, due sieroagglutinanti hanno dato un tasso inferiore a 30 u.i. agglutinanti per millilitro e due fissazioni del complemento hanno dato risul-

tato negativo. Tali prove sono praticate secondo le disposizioni dell'allegato C.

Le disposizioni di cui sopra sono applicabili altresì agli allevamenti indenni da brucellosi quando un sospetto di tale malattia è constatato presso uno o più bovini di età superiore a trenta mesi.

6. Le disposizioni di cui sopra, relative agli animali appartenenti ad un allevamento indenne da brucellosi, si applicano anche agli animali che sono stati vaccinati ad una età compresa fra i cinque e gli otto mesi prima della data di applicazione delle disposizioni della presente legge.

7. Le prove di cui ai paragrafi da 1 a 6 non sono richieste per gli animali maschi castrati in età inferiore a quattro mesi ».

Art. 11.

L'Allegato B della legge 30 aprile 1976, n. 397, è sostituito dal seguente:

« ALLEGATO B

NORME PER LA FABBRICAZIONE E LA UTILIZZAZIONE DELLE TUBERCOLINE BOVINE ED AVIARIE

1. Le tubercolinizzazioni controllate ufficialmente devono essere effettuate mediante tubercoline PPD o tubercoline preparate sinteticamente e concentrate a caldo (« tubercoline sintetiche »).

2. Gli *standards* di fabbricazione per il controllo delle tubercoline PPD bovine e delle tubercoline cosiddette « sintetiche » devono essere titolati in unità tubercoliniche comunitarie (UTC) mediante prove biologiche secondo le norme CEE per la tubercolina *standard* CEP.

3. Gli *standards* di fabbricazione per il controllo delle tubercoline aviariae devono essere espressi in unità internazionali e titolati per via biologica, secondo lo *standard* CEE della tubercolina PPD aviaria.

4. Lo *standard* CEE per la tubercolina PPD bovina è fornito dal « Centraal Diergeneeskundig Instituut », Afdeling Rotterdam, Paesi Bassi.

5. Lo *standard* CEE per la tubercolina « sintetica » bovina è fornito dall'« Institut Pasteur » di Parigi, Francia.

6. Lo *standard* CEE per la tubercolina aviaria è fornito dal « Central Veterinary Laboratory », Weybridge, Surrey, Regno Unito.

7. Le tubercoline bovine devono essere preparate con uno dei ceppi di *Mycobacterium bovis* indicati qui di seguito:

- a) AN5;
- b) Vallée.

8. Le tubercoline aviarie devono essere preparate con uno dei ceppi di *Mycobacterium avium* indicati qui di seguito:

- a) D4ER;
- b) TB56.

9. Il pH delle tubercoline deve essere compreso fra 6,5 e 7,5.

10. Per quanto concerne l'aggiunta alle tubercoline di conservanti antimicrobici o di altre sostanze, deve risultare dimostrato, a giudizio dell'istituto statale responsabile del controllo ufficiale della tubercolina, che tale aggiunta non altera l'innocuità nè l'efficacia del prodotto.

Le concentrazioni massime consentite per il fenolo e la glicerina sono le seguenti:

- a) fenolo — 0,5 per cento M/v;
- b) glicerina — 10 per cento v/v.

11. Superata con esito favorevole l'ultima prova di attività, le tubercoline, conservate a temperature comprese fra 2 °C e 8 °C ed al riparo dalla luce, rimangono valide per tutta la durata dei periodi sotto indicati:

- a) tubercoline PPD liquide: due anni,
tubercoline PPD liofilizzate: otto anni;
- b) tubercoline « sintetiche » diluite: due anni.

12. Nei rispettivi paesi, gli istituti statali seguenti sono incaricati del controllo ufficiale delle tubercoline:

- a) Germania: Paul-Ehrlich-Institut, Frankfurt-Main;

b) Belgio: Institut d'hygiène et d'épidémiologie, rue J. Wysman 14, B 1050 Bruxelles;

c) Francia: Laboratoire national des médicaments vétérinaires, Fougères;

d) Granducato di Lussemburgo: Istituto del paese fornitore;

e) Italia: Istituto superiore di sanità, Roma;

f) Paesi Bassi: Centraal Diergeneeskundig Instituut, Afdeling Rotterdam;

g) Danimarca: Statens Veterinære Serumlaboratorium, København V;

h) Irlanda: Istituto del paese fornitore;

i) Regno Unito: The Central Veterinary Laboratory, Weybridge, Surrey.

13. Ciascuna partita di tubercoline infilate e pronte per l'uso dev'essere oggetto di un controllo ufficiale.

14. Le tubercoline devono essere controllate con metodi biologici e chimici.

15. Le tubercoline devono essere sterili. Le prove di sterilità devono essere effettuate secondo le norme della farmacopea europea.

16. Le tubercoline devono risultare esenti da proprietà tossiche od irritanti in base a una prova effettuata secondo le norme della farmacopea europea.

17. Le tubercoline devono essere sottoposte a un'analisi chimica per determinare la esatta concentrazione della glicerina e/o del fenolo, nonchè la concentrazione di altri eventuali conservanti.

18. Una prova di non sensibilizzazione alla tubercolina deve essere effettuata secondo le norme della farmacopea europea.

19. L'attività delle tubercoline deve essere valutata con metodi biologici, applicabili alle tubercoline PPD e a quelle « sintetiche » e basati sul confronto delle tubercoline in esame con tubercoline *standard*.

20. Il contenuto proteico delle tubercoline PPD (tubercoloproteina) si ottiene secondo il metodo di Kjeldahl. Il fattore di conversione dell'azoto in tubercoloproteine è di 6,25.

21. Lo *standard* CEE per la tubercolina « sintetica » bovina ha un'attività di 65.000 unità tubercoliniche comunitarie (UTC) provvisorie per milligrammo, e viene distribuito in fiale da 5 milligrammi.

22. Lo *standard* CEE per la tubercolina PPD bovina ha un'attività di 50.000 UTC per mg di PPD, e viene distribuito allo stato liofilizzato in fiale contenenti 1,8 mg di PPD (0.00002 mg di PPD corrispondono cioè ad 1 unità tubercolinica comunitaria di attività).

23. La tubercolina PPD aviaria della norma CEE ha un'attività di 50.000 unità internazionali (UI) per mg di derivato proteico purificato essiccato e viene distribuita allo stato liofilizzato in fiale contenenti 10 mg di PPD più 26,3 mg di sali (0,0000726 mg dello *standard* corrispondono cioè ad 1 unità internazionale di attività).

24. Le tubercoline che i fabbricanti presentano per il controllo agli istituti statali di cui al paragrafo 12 devono essere state oggetto di una prova biologica di attività in paragone con gli opportuni *standards* elencati ai paragrafi 2 e 3.

25. a) Prove di attività su cavie.

La prova dev'essere effettuata su cavie albine di peso fra 400 e 600 grammi. Tali cavie devono essere in buona salute al momento dell'inoculazione della tubercolina. Per ciascuna prova vanno impiegate non meno di otto cavie. La prova dev'essere effettuata a non meno di un mese di distanza dalla sensibilizzazione.

aa) Per il controllo delle tubercoline bovine, le cavie devono essere sensibilizzate con uno dei metodi seguenti:

1. iniezione di *Mycobacterium bovis* del ceppo AN5, ucciso col calore, in coadiuvante oleoso;

2. iniezione di *Mycobacterium bovis* del ceppo AN5 vivo in emulsione salina fisiologica;

3. iniezione di vaccino BCG.

bb) Per il controllo delle tubercoline aviarie, le cavie devono essere sensibilizzate mediante inoculazione di 2 mg di micobat-

teri tubercolari del tipo aviario, uccisi col calore, sospesi in 0,5 ml di paraffina liquida sterile, ovvero mediante inoculazione di micobatteri tubercolari vivi del tipo aviario in emulsione salina fisiologica. Il ceppo da impiegare è quello del tipo aviario D4.

cc) Qualunque tubercolina esaminata dev'essere titolata mediante inoculazione intradermica in paragone con l'opportuna tubercolina *standard*, impiegando gruppi di cavie opportunamente sensibilizzate.

Le cavie devono essere tosate sui due fianchi. La prova deve essere effettuata confrontando le reazioni indotte da una serie di inoculazioni intracutanee di dosi da 0,2 ml al massimo di diluizioni della tubercolina *standard* in soluzione salina isotonica tamponata contenente lo 0,0005 per cento di Tween 80, con una corrispondente serie di inoculazioni della tubercolina in esame. Le diluizioni devono essere preparate in serie geometrica ed essere iniettate nelle cavie secondo una distribuzione irregolare in quadrato latino (otto iniezioni, da praticarsi in quattro punti su ciascun lato). Il diametro delle aree di reazione su ciascun lato deve essere misurato e registrato dopo 24-28 ore.

Per ciascun campione di tubercolina sotto prova deve essere effettuata una valutazione dell'attività relativa e dei suoi limiti di affidabilità, basata su metodi statistici, impiegando come metametri i diametri delle aree di reazione ed i logaritmi delle dosi. L'attività della tubercolina bovina in esame è accettabile se, in base alla valutazione, ogni dose destinata ai bovini risulta contenere 2.000 UTC (± 25 per cento). L'attività di qualunque tubercolina in esame deve essere espressa, secondo i casi, in unità tubercoliniche comunitarie o in UI/ml.

b) Controllo dell'attività sui bovini.

Un controllo dell'attività delle tubercoline bovine può essere effettuato periodicamente su bovini infetti da tubercolosi per via naturale o artificiale. Dette prove di attività, da praticarsi su gruppi di bovini tubercolotici, devono essere effettuate per inoculazione intradermica della tubercolina in esame in 4 o 6 punti, in paragone con l'opportuno *standard*; l'attività della tubercolina

IX LEGISLATURA — DISEGNI DI LEGGE E RELAZIONI - DOCUMENTI

deve essere valutata con metodi statistici come nella prova su cavie.

26. Per l'etichettatura dei contenitori e degli imballaggi delle tubercoline devono essere rispettate le seguenti norme.

L'etichetta del contenitore e quella dell'imballaggio devono indicare:

- il nome del preparato;
- per i preparati liquidi, il volume totale del contenitore;
- il numero di unità comunitarie o di unità internazionali per ml o per mg;
- il nome del fabbricante;
- il numero della partita;
- per i preparati liofilizzati, la natura e la quantità del liquido di ricostituzione.

L'etichetta del contenitore o dell'imballaggio deve indicare:

- data di scadenza;
- condizioni di conservazione;
- denominazione e, se possibile, proporzione di ogni sostanza aggiunta;
- tipo di bacillo dal quale è stata ricavata la tubercolina.

27. Dei laboratori comunitari designati conformemente all'articolo 3 verranno incaricati di controlli complementari delle tubercoline normalmente utilizzate nei vari Stati membri per assicurare che l'attività di ciascuna di queste tubercoline sia conforme a quella della corrispondente tubercolina *standard* comunitaria. Tali analisi devono essere effettuate su bovini tubercolotici, su cavie opportunamente sensibilizzate e mediante appropriate reazioni chimiche.

28. Sono riconosciute ufficialmente le seguenti tecniche di intradermotubercolinizzazione:

- a) intradermotubercolinizzazione unica: inoculazione singola di tubercolina bovina;
- b) intradermotubercolinizzazione comparativa: inoculazione simultanea delle due tubercoline (aviaria e bovina).

29. La dose di tubercolina inoculata non deve essere inferiore:

- 1) a 2.000 UTC di tubercolina bovina;
- 2) a 2.000 UI di tubercolina aviaria.

Il volume di ciascuna dose non deve superare 0,2 ml.

30. La tubercolinizzazione deve essere effettuata inoculando la tubercolina, o le tuberculine, nella pelle del collo. I punti di inoculazione devono trovarsi al limite tra il terzo anteriore ed il terzo mediano del collo. Quando nello stesso animale vengono inoculate ambedue le tuberculine, il punto di iniezione della tubercolina aviaria deve trovarsi a 10 centimetri circa dalla cresta del collo ed il punto di inoculazione della tubercolina bovina a 12,5 centimetri al di sotto di una linea approssimativamente parallela a quella delle spalle, o su diversi punti del collo; negli animali giovani, sul cui collo non vi è abbastanza spazio per effettuare le due inoculazioni a distanza sufficiente sullo stesso lato, ciascuna inoculazione va praticata su uno dei due lati del collo, in punti identici, al centro del terzo mediano del collo.

31. Tecnica ed interpretazione delle reazioni di tubercolinizzazione:

a) Tecnica.

Tosare e pulire i punti di inoculazione. Prendere fra il pollice e l'indice una piega di pelle in ciascuna delle zone depilate, misurarne lo spessore con un calibro e annotarne il risultato. Introdurre obliquamente negli strati più profondi della pelle, tenendo il taglio trasversale della punta rivolto verso l'esterno, un ago corto sterile, collegato ad una siringa graduata caricata con la tubercolina in esame. Iniettare la dose di tubercolina. L'inoculazione è avvenuta in modo corretto se la palpazione rivela un piccolo gonfiore, delle dimensioni di un pisello, in ciascun punto di inoculazione. A distanza di 72 ore dall'inoculazione, misurare nuovamente lo spessore della piega cutanea in ciascun punto di inoculazione e annotarne il risultato.

b) Interpretazione delle reazioni.

L'interpretazione delle reazioni deve essere fondata su osservazioni cliniche e sulla registrazione dell'aumento, o degli aumenti, dello spessore della piega cutanea nei punti di inoculazione, 72 ore dopo l'inoculazione della tubercolina o delle tuberculine;

ba) reazione negativa: si osserva solo un gonfiore circoscritto con aumento di spessore della piega cutanea non superiore a 2 mm senza segni clinici, quali edema diffuso od esteso, essudazione, necrosi, dolore o infiammazione dei dotti linfatici della regione o dei linfonodi;

bb) reazione dubbia: non si osservano segni clinici del tipo di quelli menzionati al punto *ba*) e l'aumento dello spessore della piega cutanea è superiore a 2 mm ed inferiore a 4 mm;

bc) reazione positiva: si osservano segni clinici del tipo di quelli menzionati al punto *ba*), o si riscontra un aumento di 4 mm o più dello spessore della piega cutanea nel punto di iniezione.

32. Interpretazione delle intradermotubercolinizzazioni ufficiali:

a) Intradermotubercolinizzazione singola:

Positiva: reazione secondo la definizione del paragrafo 31 *bc*);

Dubbia: reazione secondo la definizione del paragrafo 31 *bb*);

Negativa: reazione secondo la definizione del paragrafo 31 *ba*).

Gli animali per i quali l'intradermotubercolinizzazione singola non dà esito conclusivo devono essere sottoposti ad un'altra prova a distanza di almeno 42 giorni.

Gli animali che non risultano negativi a questa seconda prova devono essere ritenuti positivi.

Gli animali che risultano positivi all'intradermotubercolinizzazione singola possono essere sottoposti ad un'intradermotubercolinizzazione comparativa.

b) Intradermotubercolinizzazione comparativa per il riconoscimento degli allevamenti ufficialmente indenni da tubercolosi e per il mantenimento di tale qualifica:

Positiva: reazione bovina positiva, superiore di oltre 4 mm alla reazione alla tubercolina aviaria, ovvero presenza di segni clinici;

Dubbia: reazione bovina positiva o dubbia, superiore da 1 a 4 mm alla reazione alla tubercolina aviaria, ed assenza di segni clinici;

Negativa: reazione bovina negativa, ovvero reazione bovina positiva o dubbia, ma di intensità pari o inferiore ad una reazione positiva o dubbia alla tubercolina aviaria ed assenza di segni clinici in ambedue i casi.

Gli animali per i quali l'intradermotubercolinizzazione comparativa non dà esito conclusivo devono essere sottoposti ad un'altra prova a distanza di almeno quarantadue giorni. Gli animali che non risultano negativi a questa seconda prova devono essere ritenuti positivi.

c) Per gli allevamenti dove siano presenti animali per i quali si ritenga che:

1. abbiano avuto una reazione dubbia ad una intradermotubercolinizzazione singola,

2. siano risultati positivi all'intradermotubercolinizzazione singola, ma che sono in attesa di un nuovo controllo per intradermotubercolinizzazione comparativa,

3. abbiano avuto una reazione dubbia ad una intradermotubercolinizzazione comparativa,

la qualifica di « allevamento ufficialmente indenne da tubercolosi » può essere sospesa fino al momento in cui sia chiarito lo stato degli animali di cui sopra.

33. Gli animali destinati al commercio intracomunitario devono essere sottoposti a intradermotubercolinizzazione singola nei 30 giorni precedenti lo spostamento; gli animali che mostrano un aumento dello spessore della piega cutanea superiore a 2 mm o la presenza di segni clinici non possono essere ammessi allo scambio intracomunitario.

Gli animali provenienti dagli allevamenti di cui al paragrafo 32, lettera c), sono esclusi dagli scambi intracomunitari fino a quando non sarà stato chiarito lo stato sanitario degli animali ivi contemplati ».

Art. 12.

Nell'allegato C, lettera A), numero 9, della legge 30 aprile 1976, n. 397, è aggiunta la seguente lettera:

« f) Grecia. Kteniatrikon Institutoutou Loimodon kai Parasitikon Nosematon Iora Odos, 75 - Athenai, 301 ».

Nell'allegato C della legge 30 aprile 1976, n. 397, dopo la lettera C) sono aggiunte le seguenti:

« D) PROVA ALL'ANTIGENE DI BRUCELLA TAMPONATO.

La prova all'antigene di brucella tamponato può essere effettuata secondo uno dei seguenti metodi:

A. *Metodo manuale.*

1. Come siero *standard* è impiegato il secondo siero internazionale *standard* anti brucella *abortus*, fornito dal Central Veterinary Laboratory, Weybridge, Surrey, Inghilterra.

2. L'antigene è preparato senza riferimento alla concentrazione delle cellule, ma la sua sensibilità deve essere standardizzata rispetto al secondo siero internazionale *standard* anti-brucella *abortus* in modo tale che l'antigene dia reazione positiva con un siero diluito 1 : 47,5 e reazione negativa con un siero diluito 1 : 55.

3. L'antigene deve essere sospeso in diluente per l'antigene di brucella tamponato a pH $3,65 \pm 0,5$ e può essere stato colorato mediante rosa Bengala.

4. Per la preparazione dell'antigene devono essere utilizzati il ceppo Weybridge n. 99 oppure l'USDA 1119 o qualunque altro ceppo di sensibilità equivalente.

5. I terreni di coltura impiegati per la conservazione del ceppo in laboratorio e per la produzione dell'antigene devono essere tali da non provocare la dissociazione batterica (S—R); sono raccomandabili il terre-

no agarpatata oppure i metodi di coltura continua. L'antigene deve essere controllato nei confronti di 8 sieri liofilizzati riconosciuti rispettivamente positivi o negativi.

La sorveglianza e il controllo ufficiale dei sieri e degli antigeni *standard* sono effettuati dagli organismi ufficiali elencati nell'allegato C, punto A 9.

L'antigene deve essere fornito pronto per l'uso.

La prova dell'antigene di brucella tamponato deve essere effettuata nel modo seguente:

a) porre una goccia (0,03 ml) di antigene a fianco di una goccia (0,03 ml) del siero su una piastra bianca;

b) mescolare con un agitatore prima in linea retta, poi tracciando dei cerchi del diametro di 10-12 mm circa;

c) agitare la piastra alternativamente per 4 minuti (circa 30 movimenti al minuto);

d) effettuare la lettura della prova in buone condizioni d'illuminazione; in mancanza di agglutinazione la prova sarà considerata negativa; qualsiasi grado di agglutinazione va considerato positivo, salvo quando appare chiara una eccessiva essiccazione intorno ai margini.

B. Metodo automatizzato

Il metodo automatizzato deve essere sensibile ed esatto almeno quanto il metodo manuale.

E) PROVA DELL'ANELLO DI LATTE, EFFETTUATA SU PLASMA SANGUIGNO.

A. Prelievo di plasma sanguigno

Le provette con il sangue reso non coagulabile mediante aggiunta di EDPA sono centrifugate per 3 minuti a 3.000 giri al minuto e poi conservate per 12-24 ore a 37°C.

B. Impostazione diagnostica

Si versano 0,2 ml di plasma stabilizzato in una provetta contenente 1 ml di latte crudo. Dopo aver agitato, si aggiunge una goc-

IX LEGISLATURA — DISEGNI DI LEGGE E RELAZIONI - DOCUMENTI

cia (0,05 ml) di antigene ABR e si agita nuovamente. L'antigene è standardizzato rispetto ad un antigene *standard* messo a disposizione dall'Istituto menzionato al punto A 9 a).

Dopo aver lasciato riposare per 45 minuti ad una temperatura di 37°C, si esamina il risultato entro 15 minuti. La prova è considerata positiva se l'anello di latte ha la stessa colorazione o una colorazione più pronunciata di quella della colonna di latte.

F) AGGLUTINAZIONE DEL PLASMA SANGUIGNO.

Il plasma sanguigno ottenuto conformemente al metodo di cui alla lettera E), punto A, può essere utilizzato immediatamente dopo la centrifugazione senza che sia necessario procedere alla stabilizzazione termica.

Si mescolano 0,05 ml di plasma con 1 ml di antigene per la sieroaagglutinazione al 50 per cento il che corrisponde ad un titolo di diluizione 1 : 20 nel caso della sieroaagglutinazione. Si esamina il risultato dopo aver lasciato riposare per 18-24 ore alla temperatura di 37°C. La prova è considerata positiva se l'agglutinazione è uguale o superiore al 50 per cento ».

Art. 13.

L'allegato E della legge 30 aprile 1976, n. 397, è sostituito dal seguente:

« ALLEGATO E

Sono soggette a denuncia obbligatoria le malattie seguenti:

a) *Malattie della specie bovina.*

Rabbia

Tubercolosi

Afta epizootica

Carbonchio ematico

Peste bovina

Pleuropolmonite

Leucosi bovina enzootica.

b) *Malattie della specie suina.*

Rabbia

Brucellosi

Carbonchio ematico

Afta epizootica

Peste suina

Malattia vescicolare dei suini da enterovirus

Peste suina africana ».

Art. 14.

Nell'allegato *F* della legge 30 aprile 1976, n. 397, la nota in calce 4 dei modelli I e III e la nota in calce 5 dei modelli II e IV sono modificate come segue:

le parole « in Italia: Veterinario provinciale » sono sostituite dalle parole: « in Italia: Veterinario della unità sanitaria locale »;

dopo le parole « nel Regno Unito: Veterinary Inspector; » vengono aggiunte le parole: « ; in Grecia: O proistamenos tes kteniatrikes yperesias tou semeiou exodov ».

L'allegato *F*, modello I, della legge 30 aprile 1976, n. 397, è modificato come segue:

nel punto V, dopo la lettera *d*), è aggiunta la seguente lettera:

« *e*) sono stati mantenuti negli ultimi 12 mesi (5) o, se di età inferiore a 12 mesi, dalla nascita, in un allevamento in cui, nel corso degli ultimi tre anni (5), a conoscenza del sottoscritto e secondo le assicurazioni date dal proprietario, non è stato accertato alcun caso di leucosi bovina enzootica (2) (12);

provengano da un allevamento in cui nulla ha consentito di desumere l'esistenza di casi di leucosi bovina enzootica negli ultimi tre anni (2);

alla data dell'esame, tutti i bovini di età superiore a 24 mesi sono stati sottoposti (2) (12) nel corso degli ultimi 12 mesi (5) con risultato negativo ad un esame sierologico (13);

hanno reagito negativamente (8) (11) (2) entro il termine prescritto di trenta gior-

ni (5) ad un esame sierologico per la ricerca della leucosi bovina enzootica;

sono destinati all'ingrasso (2) (11) »;

le lettere da *e*) a *i*) del punto V diventano lettere da *f*) a *j*);

dopo la nota in calce 10 sono aggiunte le seguenti note:

« (11) È fatta eccezione solo per gli animali maschi di età inferiore a 30 mesi destinati all'ingrasso, semprechè tali animali rechino un contrassegno distintivo e siano sottoposti ad un controllo particolare nel paese di destinazione.

(12) Tale indicazione è necessaria solo per gli animali riproduttori di razza pura, esclusivamente riservati alla riproduzione e di grande valore.

(13) L'esame sierologico è stato effettuato conformemente all'allegato C ».

Art. 15.

L'allegato *F*, modello III, della legge 30 aprile 1976, n. 397, è modificato come segue:

nel punto V, dopo la lettera *b*), è inserita la seguente:

« *c*) provengono:

da una azienda ufficialmente indenne da peste suina (2)

da una azienda indenne da peste suina (2) e

i) non sono stati vaccinati contro la peste suina (2)

ii) sono stati vaccinati contro la peste suina;

un'autorizzazione del Paese destinatario è stata all'uopo concessa (2) »;

le lettere *c*), *d*) ed *e*) diventano rispettivamente lettere *d*), *e*) ed *f*);

nella nuova lettera *e*), dopo le parole: « da afta epizootica », sono inserite le parole: « da malattia vescicolare dei suini da enterovirus ».

Art. 16.

Nella legge 30 aprile 1976 n. 397, dopo l'allegato *F* è inserito il seguente allegato:

ALLEGATO *G*

PROVA DI IMMUNODIFFUSIONE PER LA RICERCA DELLA LEUCOSI BOVINA ENZOOTICA

A. Reazione di immunodiffusione su gel di agar

1. L'antigene da impiegare nella prova deve contenere glicoproteine del virus della leucosi bovina. Esso va standardizzato rispetto a un siero di riferimento (siero E 1) fornito dal laboratorio sierologico veterinario statale danese di Copenaghen.

2. La responsabilità della standardizzazione degli antigeni di laboratorio rispetto al siero ufficiale CEF di riferimento (siero E 1) fornito dal laboratorio sierologico veterinario di Stato di Copenaghen è affidata ai seguenti istituti:

a) Germania - Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere - Tübingen;

b) Belgio - Institut national de recherches vétérinaires, Bruxelles;

c) Francia - Laboratoire des médicaments vétérinaires, Fougères;

d) Granducato del Lussemburgo;

e) Italia - Istituto zooprofilattico sperimentale, Perugia;

f) Paesi Bassi - Centraal Diergeneeskundig Instituut, Afdeling Rotterdam;

g) Danimarca - Statens Veterinære Serumlaboratorium, København;

h) Irlanda - Veterinary Research Laboratory, Abbotstown, Dublin;

i) Regno Unito: 1. Gran Bretagna: The Central Veterinary Laboratory, Weybridge, England; 2. Irlanda del Nord: The Veterinary Research Laboratory, Stormont, Belfast.

3. Gli antigeni standard di laboratorio devono essere presentati almeno una volta all'anno ai laboratori di riferimento CEE

elencati al paragrafo 2 per essere esaminati in rapporto al siero CEE. Indipendentemente da detta standardizzazione, l'antigene in uso può essere standardizzato secondo la tecnica descritta alla lettera B.

4. I reattivi da impiegare sono i seguenti:

a) antigene: esso dovrà contenere le glicoproteine specifiche del virus della leucosi bovina enzootica standardizzato rispetto al siero ufficiale CEE;

b) siero in esame;

c) siero di controllo riconosciuto positivo;

d) gel di agar; 0,8% di agar; 8,5% di NaCl; tampone Tris 0,05 M a pH 7,2; versare 15 ml di questo terreno in una scatola Petri del diametro di 85 mm, in modo da ottenere uno strato dello spessore di 2,6 mm.

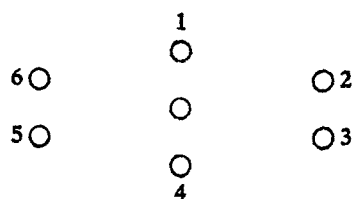
5. Nell'agar sul fondo della scatola ricavare sette pozzetti, esenti da umidità e distribuiti come segue: un pozzetto centrale e 6 pozzetti disposti in cerchio attorno ad esso;

diametro del pozzetto centrale: 4 mm,

diametro dei pozzetti periferici: 6 mm,

distanza fra il pozzetto centrale e i pozzetti periferici: 3 mm.

6. Riempire il pozzetto centrale con l'antigene standard, i pozzetti periferici 1 e 4 (vedi lo schema) con un siero riconosciuto come positivo e i pozzetti 2, 3, 5 e 6 con i sieri in esame. Il riempimento va effettuato fino a scomparsa del menisco.



7. Le quantità di reattivi da impiegare sono dunque le seguenti:

antigene: 32 microlitri,

siero di controllo: 73 microlitri,

sieri in esame: 73 microlitri.

8. Incubare per 72 ore a temperatura ambiente (20—27°C), in atmosfera confinata ed umida.

9. La lettura può essere effettuata dopo 24 e 48 ore, ma non è possibile ottenere il risultato finale prima di 72 ore.

a) Il siero in esame è positivo se forma una linea specifica di precipitine con l'antigene del virus della LBE e una linea completa di identità con il siero di riferimento;

b) il siero in esame è negativo se non forma una linea specifica di precipitazione con l'antigene della IBF e se non provoca l'incurvamento della linea del siero di riferimento;

c) la reazione è considerata non conclusiva:

i) se la linea del siero di riferimento si incurva verso l'antigene della LBE senza formare con l'antigene una linea di precipitine visibili, ovvero

ii) se non può essere interpretata come negativa o positiva.

Quando la reazione non è conclusiva, la prova può essere ripetuta e può essere impiegato siero concentrato.

B. Metodo per la standardizzazione dell'antigene

Soluzioni e materiali necessari:

1. 40 ml di agarosio all'1,6% in tampone Tris/HCl 0,05 M a pH 7,2 contenente l'8,5 per cento di NaCl;

2. 15 ml di siero della leucosi bovina, contenente anticorpi delle sole glicoproteine del virus della leucosi bovina, diluito 1:10 in tampone Tris/HCl 0,05 M a pH 7,2, contenente l'8,5% di NaCl;

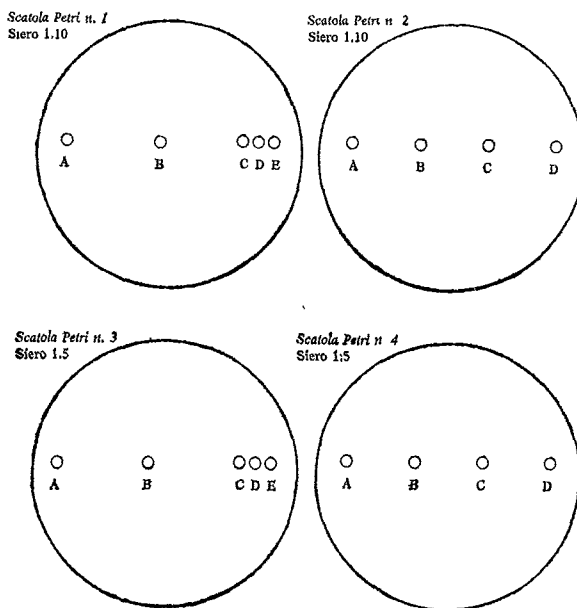
3. 15 ml di siero della leucosi bovina, contenente anticorpi delle sole glicoproteine del virus della leucosi bovina, diluito 1:5 in tampone Tris/HCl 0,05 M a pH 7,2, contenente l'8,5% di NaCl;

4. 4 scatole Petri in plastica, del diametro di 85 mm.;
5. un punzone del diametro di 4-6 mm;
6. antigene di riferimento;
7. antigene da standardizzare;
8. bagnomaria (56°C).

Modo di operare:

Sciogliere l'agarosio (1,6%) nel tampone Tris/HCl, riscaldando cautamente a 100° C. Mettere in bagnomaria a 56° C per circa 1 ora. Porre in bagnomaria a 56° C anche la diluizione di siero della leucosi bovina. Mescolare 15 ml della soluzione di agarosio a 56° C con 15 ml di siero della leucosi bovina (1 : 10), agitare rapidamente e versare due porzioni da 15 ml della miscela in due scatole Petri. Ripetere il procedimento con il siero della leucosi bovina diluito 1 : 5.

Quando l'agarosio si è solidificato, praticare i pozzetti secondo il seguente schema:



Aggiunta di antigene:

I. Scatole Petri 1 e 3:

- pozzetto A = antigene di riferimento non diluito,
- pozzetto B = antigene di riferimento, diluito 1:2,
- pozzetti C + E = antigene di riferimento,
- pozzetto D = antigene da controllare, non diluito.

II. Scatole Petri 2 e 4:

pozzetto A = antigene in esame, non diluito,

pozzetto B = antigene in esame, diluito 1:2,

pozzetto C = antigene in esame, diluito 1:4,

pozzetto D = antigene in esame, diluito 1:8.

Istruzioni complementari:

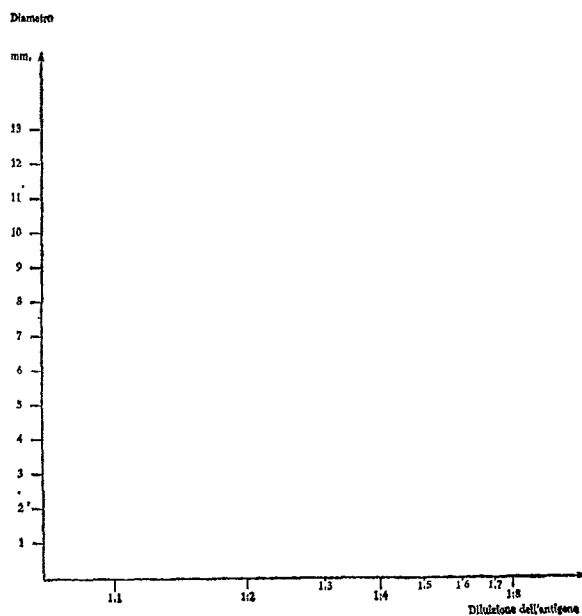
1. Per realizzare una precipitazione ottimale, l'esperimento va effettuato con due diluizioni di siero (1:5 e 1:10).

2. Se il diametro di precipitazione è troppo piccolo ad ambedue le diluizioni, il siero va ulteriormente diluito.

3. Se la precipitazione per ambedue le diluizioni è indistinta e il diametro è troppo grande, per il siero va scelta una diluizione inferiore.

4. La concentrazione finale dell'agarosio deve essere dello 0,8%; quella dei sieri deve essere rispettivamente del 5% e del 10%.

5. Riportare i diametri misurati sull'accluso sistema di assi coordinati. La diluizione di lavoro deve corrispondere alla diluizione dell'antigene sotto prova che ha lo stesso diametro dell'antigene di riferimento.



Art. 17.

L'allegato G della legge 30 aprile 1976, n. 397, è modificato in allegato H.

Art. 18.

Il Ministro della sanità, con propri decreti, emana le norme necessarie per conformarsi alle disposizioni della Comunità economica europea adottate per modificare gli allegati B, C e D della legge 30 aprile 1976, n. 397, nonchè nel caso vengano prorogati i termini menzionati agli articoli 2 e 3 del decreto del Presidente della Repubblica 5 giugno 1982, n. 475, ed agli articoli 6, 10-ter, e 8 della presente legge.